

## Portable videomicroscopic observation of suspended particles in gas or liquid stream

**Publication number:** DE19744246

**Publication date:** 1999-04-29

**Inventor:** SUHR HAJO PROF DR (DE)

**Applicant:** SUHR HAJO PROF DR (DE)

**Classification:**

**- international:** **G01N15/14; G02B21/36; G01N15/14; G02B21/36;**  
(IPC1-7): G01N15/02; G01N15/06; G01N21/85;  
G02B21/36; G06M11/00; G06T1/00

**- european:** G01N15/14; G02B21/36V

**Application number:** DE19971044246 19971007

**Priority number(s):** DE19971044246 19971007

**Report a data error here**

### Abstract of **DE19744246**

Flow in the channel ahead of the observation point, passes a sensor zone where particles are detected optically or electrically. The detector signal triggers circuitry causing image recording by the video microscope. A delay circuit is incorporated, so that the image is not taken until the particle is located in the imaging frame. An Independent claim is included for the apparatus implementing the method. The detector is a miniature condenser (7) ahead of the imaging microscope (13). On particle (5) arrival between its electrodes, resulting capacity difference produces a measurable signal pulse (8) in the condenser circuit. Preferred Features: Particle detection takes place at the focus of a light source in the flow channel. Here a flash of light is caused by particle entry into the intensely illuminated zone. A sensitive photodetector, e.g. a photomultiplier, registers and signals the event. A CCD camera processes the image signal. This is an intelligent camera, analyzing the image and characterizing the particles and their calculated parameters. No external computer is required. The result is a compact, portable and fully autonomous particle measurement apparatus. Imaging takes place on a standard video monitor, or on an integral small screen of the camera. Results of numerical analysis from the intelligent camera, are displayed on a standard monitor or a miniaturized video monitor. They can also be made available as analog signal outputs. Digitized images may also be input to external computers for further analysis and documentation. The intelligent camera can be computer controlled, from remote locations.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide



①⑨ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 197 44 246 A 1**

⑳ Aktenzeichen: 197 44 246.3  
㉔ Anmeldetag: 7. 10. 97  
㉕ Offenlegungstag: 29. 4. 99

㉖ Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**G 01 N 15/02**  
G 01 N 15/06  
G 01 N 21/85  
G 06 M 11/00  
G 02 B 21/36  
G 06 T 1/00

DE 197 44 246 A 1

㉗ Anmelder:  
Suhr, Hajo, Prof. Dr., 69121 Heidelberg, DE

㉘ Erfinder:  
gleich Anmelder

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

㉙ Verfahren und Vorrichtung zur Videomikroskopie disperser Partikelverteilungen

DE 197 44 246 A 1

## Beschreibung

Viele Dispersionen bewegter Partikeln in flüssigen oder gasförmigen Medien – beispielsweise Staubpartikeln, Flüssigkeitströpfchen in Luft oder etwa Pollen – müssen zur Umweltüberwachung oder zur Optimierung industrieller Prozesse in Echtzeit (online) detektiert und charakterisiert werden.

Hierfür haben sich vier Klassen von Instrumenten etabliert:

1. Partikelsammler, wobei in der ersten Stufe eine Partikelsammlung durch Filterung oder Sedimentation stattfindet und in einer zweiten Stufe Menge und Spezies der Partikeln durch Wägung, Mikroskopie und/oder chemische Analyse bestimmt werden.
2. Streueffekt-Instrumente, wobei als Maß der Partikelkonzentration die Streuung von Strahlung direkt oder indirekt registriert wird, die beim Durchgang der Strahlung (Licht, Mikrowellen, Elektronenstrahlen, radioaktive Strahlen oder Schall) durch das partikelbeladene Medium entsteht.
3. Zählende Instrumente, in welchen die Einzelpartikel beim Durchgang durch einen enge Detektionszone registriert und durch ein pulsförmiges Signal einzeln angezeigt werden – beispielsweise die "Coulter-Counter". Dauer und Höhe der Pulssignale gestatten zusätzliche Aussagen bezüglich Partikeleigenschaften wie etwa Material oder Größe. Unterschiedliche Detektionsmechanismen werden eingesetzt. Beispielsweise werden Streulichtblitze beim Durchgang der Partikeln durch den Fokus eines Lichtstrahls erzeugt und mit Lichtdetektoren registriert, oder es werden sprunghafte Kapazitätsänderung eines winzigen Kondensators, zwischen dessen Elektroden ein Teilchen hindurchfliegt, zur Erzeugung elektrischer Pulse genutzt.
4. In situ Mikroskope. Dieses sind Videomikroskope, die ohne Probennahme direkt in das partikelbeladene Medium schauen, beispielsweise durch ein Fenster eines gerührten Bioreaktors. Bewegungsunschärfe der bewegten Partikeln wird vermieden durch Blitzbelichtung des Mikroskops und/oder durch kurzzeitige Öffnung des elektronischen Kameraverschlusses. Die Auswertung nach gewünschten Partikelparametern (Größe, Anzahl, Erkennung) leistet eine Digitale Bildverarbeitung des Kamerabildes. Dies Verfahren ist relativ neu und wird dargestellt in der Patentschrift DE 40 32 00 252 sowie in der Zeitschrift "Biotechnology & Bioengineering" Jahrgang 1995, Band 478, Seiten 106–116.

Die In situ Mikroskopie hat gegenüber den anderen Verfahren den Vorteil, daß sie die Gestalt einzelner Partikel mit einer optischen Auflösung von bis zu 0,5 µm direkt abbildet. Nachteilig ist jedoch der limitierte Konzentrationsbereich, in welchem mit ausreichender Statistik Partikelbilder aufgenommen werden können.

Problematisch ist die Partikeldetektion bei geringen Partikelkonzentrationen, etwa bei tausend Partikeln pro Kubikzentimeter. Dies ist beispielsweise ein wichtiger Meßbereich für die Überwachung von Stäuben. Bei derartigen Teilchenkonzentrationen wird der winzige Beobachtungsbereich des In situ Mikroskops von beispielsweise ca.  $10^{-8}$  (cm)<sup>3</sup> nur sehr selten von einem Partikel durchquert.

Ein Beispiel: Um nur etwa zehn Partikeln mit ca. 20 µm Durchmesser bei einer Konzentration von  $10^3$  Partikeln pro Kubikzentimeter scharf abzubilden, müßte das In situ Mikroskop etwa zehn Stunden lang mit einer Bildfrequenz von 30

Bildern pro Sekunde arbeiten. Dies ist vollkommen unpraktikabel.

Die vorliegende Erfindung macht nun auch den Meßbereich geringer Konzentrationen für eine online – Videomikroskopie erreichbar. Nach Anspruch 1 schaut ein Videomikroskop durch ein Fenster in einen engen Strömungskanal, das von einem partikeltragenden Medium mit definierter Geschwindigkeit durchströmt wird – getrieben durch eine genau kontrollierte Druckdifferenz. Infolge seines geringen Probevolumens und der begrenzten Bildfrequenz kann das Videomikroskop nur Bilder von einem geringen Teil des durchströmenden Volumens aufnehmen.

Damit nun trotz der lückenhaften Volumenabtastung durch das Mikroskop alle durchströmenden Partikel abgebildet werden, muß die Mikroskopkamera "wissen", wann im Meßkanal sich ein Probevolumen mit (mindestens) einem Partikel nähert. Dieses vorausgesetzt, wird nun eine Bildaufnahme durch das ankommende Partikel selbst ausgelöst. Die Kamera wird also von der Beobachtung der großen partikelfreien Volumenanteile entlastet und ist aufnahmebereit für die relevanten Probevolumina, in welchen sich Partikel befinden.

Das rechtzeitige Signal von herantreibenden Partikeln muß durch einen zusätzlichen Detektor für Einzelpartikel gegeben werden, der den Strömungskanal stromaufwärts von der mikroskopierte Stelle überwacht.

Der Detektor registriert ankommende Partikel und sendet augenblicklich ein Pulssignal zum zeitgerechten Triggern des Kameraverschlusses und der Mikroskopbelichtung.

Als Detektionsmechanismus kommen alle Mechanismen in Frage, die auch in den oben erwähnten handelsüblichen zählenden Partikelmeßgeräten angewendet werden, beispielsweise die Kapazitätsänderung eines Kondensators durch die Wechselwirkung mit einem Partikel.

Auch der Einsatz kommerzieller Partikelzähler zur Kameratriggerung ist möglich, wobei dann sogar die Auswertung der Videomikroskopie mit der quantitativen Auswertung des zählenden Gerätes kombiniert werden kann.

Eine vorteilhafte Ausgestaltung des Partikel-getriggerten Videomikroskops ist in Fig. 1 skizziert.

Das strömende Medium 1 (z. B. Luft) wird durch eine Membranpumpe 2 in den Strömungskanal 3 gesaugt. Die geometrische Form der Eingangsmündung 4 ist so zu gestalten, daß die Partikelbeladung des angesaugten Mediums durch den Ansaugvorgang möglichst wenig verfälscht wird – ein Problem, das für alle ansaugenden und probenehmenden Sonden der Partikelmeßtechnik auftritt und für welche dem Fachmann entsprechendes Optimierungswissen zur Verfügung steht.

Der Strömungskanal ist im Bereich der mikroskopierte Stelle so eng, daß alle hindurchtransportierten Partikeln durch das transparente Fenster 6 vom Objektiv des Mikroskops erfaßt und ausreichend scharf abgebildet werden.

Stromaufwärts zur Beobachtungsstelle des Mikroskops befindet sich ein Miniatur-Kondensator, dessen Elektroden isoliert in der Wand des Strömungskanals eingefaßt sind, so daß der Kondensator die effektive Dielektrizitätskonstante im Strömungskanal mißt.

Partikeln, die sich in die Kondensatorzone hineinbewegen, ändern dort sprunghaft die effektive Dielektrizitätskonstante und damit die Kapazität. Der Kapazitätssprung wird mit handelsüblicher Elektronik in einen elektrischen Strompuls 8 umgeformt.

Dieser Puls triggert einen elektronischen Pulser 9, der mit passender Zeitverzögerung einen normierten Ausgangspuls 10 erzeugt. Der Ausgangspuls 10 des Pulser triggert den Verschluß der Kamera 11 und die Blitzbelichtung 12 des Mikroskops genau in dem Moment, in dem das Partikel infolge

der definierten Strömungsgeschwindigkeit das mikroskopierte Volumen erreichen muß, so daß dort ein scharfes Bild des Partikels genommen wird.

Das Bild wird elektronisch weiterverarbeitet, auf einem Monitor 14 dargestellt und einer automatischen Bildverarbeitung in einem Rechner 15 zugeführt. Charakterisierung und eventuell Erkennung der Partikel wird von einer automatischen Bildverarbeitung übernommen. Der Videomonitor ermöglicht die visuelle online - Inspektion der Partikel.

Wenn sich beispielsweise statistisch nur in jedem tausendsten Volumen von der Größe des mikroskopischen Beobachtungsbereichs ein Partikel befindet, kann im Vergleich zum In situ Mikroskop die Meßzeit durch forcierten Transport des Mediums im Meßkanal um einen Faktor Tausend verkürzt werden. Die kapazitive Detektion an der schnellen Strömung übernimmt eine rasche Vorselektion der Probevolumina und entlastet so das Mikroskop. Die Strömungsgeschwindigkeit kann sinnvoll soweit erhöht werden, bis die Kamera von ankommenden Partikeln in solch kurzen Zeitabständen getriggert wird, daß eine weitere Erhöhung der Bildfrequenz wegen der notwendigen Bildverarbeitungszeit nicht mehr möglich ist. Weitere Steigerung der Strömungsgeschwindigkeit wäre dann unproduktiv.

#### Patentansprüche

1. Verfahren zur Videomikroskopie von Partikeln, die in gasförmigen oder flüssigen Medien dispergiert sind, beispielsweise von Pollen oder Staubteilchen in Luft oder von Mikroorganismen oder feinen Gasbläschen in Wasser, mit folgenden Merkmalen:

- eine kurze Belichtungszeit dient zur scharfen Bildaufnahme der beweglichen mikroskopischen Partikeln ohne Bewegungsunschärfe,
- die kurze Belichtungszeit wird realisiert entweder durch eine gepulste Mikroskopbelichtung (Blitz),
- oder eine kurze Kameraöffnungszeit (durch elektronischen Shutter) bei kontinuierlicher Mikroskopbelichtung,
- oder eine Kombination beider Techniken mit Synchronisation von Blitz und Öffnung des Kamera-  
verschlusses,
- die Mikroskopbilder werden zur visuellen Inspektion auf einem Videomonitor gezeigt,
- die Bilder werden mit digitaler Bildverarbeitung ausgewertet, um die Partikel zu charakterisieren, beispielsweise hinsichtlich der Partikelhäufigkeit oder hinsichtlich der Partikelgröße, oder um bekannte Partikelspezies, beispielsweise Pollen, Asbestteilchen, Tröpfchen oder Bläschen durch Erkennung selektiv zu detektieren,
- das partikeltragende Medium wird mit Hilfe von Druckanwendung durch einen engen Strömungskanal transportiert, der vor dem Mikroskopobjektiv verläuft,
- durch ein transparentes Fenster in der Wand des Strömungskanals wird dessen Inneres mit dem Mikroskop beobachtet,
- der Strömungskanal wird so eng ausgelegt, daß alle im Kanal am Mikroskop vorbei transportierten Partikeln noch vom optischen Schärfebereich des Mikroskops erfaßt werden und somit scharf vom Objektiv in die Kamera abgebildet, **dadurch gekennzeichnet, daß:**
- die Strömung im Strömungskanal - bevor sie die mikroskopierte Beobachtungsstelle erreicht - eine Sensorzone durchläuft, in welcher die mit-

transportierten Partikeln von einem Partikeldetektor registriert werden, der auf jedes einzelne Partikel sofort mit einem elektrischen oder optischen Signal reagiert,

- das Signal des Partikeldetektors mit Hilfe einer Triggerelektronik die rechtzeitige Kurzzeit-Bildaufnahme des Videomikroskops zur Aufnahme des ankommenden Partikels auslöst,
- die Laufzeit des Partikels von der Detektorzone zur Mikroskopierposition durch eine entsprechende elektronisch eingestellte Zeitverzögerung (Delay) der Mikroskoptriggeung berücksichtigt wird, so daß das Videomikroskop genau in dem Zeitfenster ein Bild aufnimmt, in dem das Partikel von ihm erfaßt wird.

2. Eine vorteilhafte Vorrichtung zur Ausgestaltung des Verfahrens nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß

- der Partikeldetektor vor dem Mikroskop 13 aus einem Miniatur-Kondensator 7 besteht, der die Ankunft des Partikels 5 zwischen seinen Elektroden durch einen Kapazitätssprung anzeigt, der seinerseits ein meßbares elektrisches Pulssignal 8 in der Kondensatorschaltung erzeugt.

3. Eine vorteilhafte Ausgestaltung des Verfahrens nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet daß

- die Partikeldetektion vor dem Mikroskop realisiert wird, indem der Fokus einer Lichtquelle in den Strömungskanal verlegt wird, so daß die Partikeln beim Durchqueren dieser intensiven Lichtzone einen Streulichtblitz verursachen, der von einem empfindlichen Lichtdetektor, beispielsweise einem Photomultiplier, registriert und angezeigt wird.

4. Eine vorteilhafte Ausgestaltung des Verfahrens nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß

- die Verarbeitung des Bildsignals in einer CCD-Kamera mit integriertem Signalprozessor ("Intelligente Kamera") erfolgt, so daß zur Auswertung des Bildes bezüglich der Partikelcharakterisierung und zur Anzeige der berechneten Partikelparameter kein externer Rechner notwendig ist,
- durch die Verwendung einer CCD-Kamera mit integriertem Signalprozessor ein kompaktes, transportables und vollständig autonomes Partikelmeßgerät entsteht,
- dieses autonome Instrument die Partikelbilder auf einem Standard-Videomonitor oder auf einem integrierten Kleinbildschirm abbilden kann,
- die numerischen Auswerteergebnisse der intelligenten Kamera auf einem alphanumerischem Display oder auf einem Standard Video-Monitor oder auf einem miniaturisiertem Videomonitor oder auch in analogen Signalausgängen angezeigt werden,
- und über ein Interface die digitalisierten Bilder auch externen Rechnern zu erweiterter Auswertung und Dokumentation zugeführt werden können und die intelligente Kamera von entfernter Stelle über Rechner gesteuert werden kann.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

Fig. 1

